

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
24. Juli 2003 (24.07.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/060057 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷:

C12M 1/00

(74) Anwälte: VON KREISLER, Alek usw.; Patentanwälte von Kreisler Selting Werner, Deichmannhaus am Dom, 50667 Köln (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP03/00344

(22) Internationales Anmeldedatum:

15. Januar 2003 (15.01.2003)

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(30) Angaben zur Priorität:

102 01 778.6 17. Januar 2002 (17.01.2002) DE

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): REETZ, Manfred, T. [DE/DE]; Lembkestrasse 14, 45470 Mülheim/Ruhr (DE). LEITNER, Walter [DE/DE]; Steiler Weg 14c, 45468 Mülheim/Ruhr (DE). FRANCIO, Giancarlo [IT/IT]; Via Minissale 19, I-98125 Messina (IT). WIESENHÖFER, Wolfgang [DE/DE]; Duisburger Strasse 172, 40885 Ratingen (DE).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR CARRYING OUT ENZYMATIC REACTIONS IN IONIC SOLVENTS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR DURCHFÜHRUNG VON ENZYMATISCHEN REAKTIONEN IN IONISCHEN LÖSUNGSMITTELN

(57) **Abstract:** When carrying out enzymatic reactions in ionic solvents with the aid of compressed gases, particularly CO₂, the products are extracted from the ionic solvents and from the enzymes in a manner that is environmentally friendly and does not alter enzymes. In addition, an appropriate choice of extraction conditions enables a separation of the product and educt or of the by-products thus leading to an effective enantiomer separation, for example, during kinetic racemate splitting with lipases. Solvents, extraction gases and enzymes can be reused.

(57) **Zusammenfassung:** Bei der Durchführung von enzymkatalysierten Reaktionen in ionischen Lösungsmitteln werden mit Hilfe von komprimierten Gasen, insbesondere CO₂, die Produkte in umweltfreundlicher und enzymschonender Weise von den ionischen Lösungsmitteln und von den Enzymen abgetrennt. Durch geeignete Wahl der Extraktionsbedingungen lässt sich ferner eine Trennung von Produkt und Edukt bzw. Nebenprodukten erreichen, was beispielsweise bei der kinetischen Racematspaltung mit Lipasen zu einer effektiven Enantiomerentrennung führt. Lösungsmittel, Extraktionsgase und Enzyme sind wiederverwendbar.

WO 03/060057 A2

Verfahren zur Durchführung von enzymatischen Reaktionen in ionischen Lösungsmitteln

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Durchführung einer enzymatischen Reaktion in einem ionischen Lösungsmittel, in dem die Produkte und/oder Edukte mittels einer Extraktion mit einem komprimierten Gas vom ionischen Lösungsmittel und vom Enzym abgetrennt werden. Durch geeignete Wahl der Extraktionsbedingungen lässt sich ferner eine Trennung von Produkt und Edukt bzw. Nebenprodukten erreichen, was beispielsweise bei der kinetischen Racematspaltung mit Lipase zu einer effektiven Enantiomerentrennung führt. Das ionische Lösungsmittel und das Enzym können wieder eingesetzt werden. Als komprimiertes Gas eignet sich insbesondere Kohlendioxid (CO₂).

Enzyme werden in zunehmendem Maße als Katalysatoren für organische Stoffumwandlungen in der Industrie eingesetzt [A. Liese, K. Seelbach, C. Wandrey, *Industrial Biotransformations*, Wiley-VCH, Weinheim, 2000]. Während zu Anfang dieser Entwicklung wässrige Lösungen von Enzymen verwendet wurden, zeigten spätere Untersuchungen, dass sich auch Suspensionen von Enzymen in organischen Solventien eignen. Damit sind einige Vorteile verbunden, so z. B. die Tatsache, dass Stoffumwandlungen wie Ver- oder Umesterungen aus thermodynamischen Gründen nur in wasserfreien bzw. organischen Lösungsmitteln möglich sind [K. Drauz, H. Waldmann, *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis: A Comprehensive Handbook*, Vol. 1 und 2, Wiley-VCH, Weinheim, 1995]. Beispielsweise verläuft die Lipase-katalysierte Veresterung von Alkoholen mit Acylierungsmitteln wie Vinylacetat nur in organischen Solventien, in Wasser würde das Vinylacetat lediglich eine Hydrolyse eingehen.

Andere Vorteile eines nicht-wässrigen Mediums sind z. B. die gute Löslichkeit von Substraten sowie die Möglichkeit, die Enantioselektivität durch Variation des organischen Lösungsmittels zu optimieren. Die Verwendung von organischen Solventien in enzymkatalysierten Stoffumwandlungen hat jedoch auch Nachteile [a) A. Liese, K. Seelbach, C. Wandrey, *Industrial Biotransformations*, Wiley-VCH, Weinheim, 2000; b) K. Drauz, H. Waldmann, *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis: A Comprehensive Handbook*, Vol. 1 und 2, Wiley-VCH, Weinheim,

1995]. In einem solchen Medium sind die Enzym-Aktivitäten oft recht gering, ferner sind die meisten organischen Lösungsmittel nicht nur toxisch sondern auch flüchtig und daher aus ökologischen Gründen bedenklich. Um Probleme dieser Art zu lösen, wurden bei enzymkatalysierten Reaktionen ionische Lösungsmittel eingesetzt [a) K.-W. Kim, B. Song, M.-Y. Choi, M.-J. Kim, *Org. Lett.* 2001, 3, 1507-1509; b) P. Lozano, T. De Diego, D. Carrié, M. Vaultier, J. L. Iborra, *Biotechnol. Lett.* 2001, 23, 1529-1533; c) S. H. Schöfer, N. Kaftzik, P. Wasserscheid, U. Kragl, *Chem. Commun. (Cambridge)* 2001, 425-426; d) T. Itoh, E. Akasaki, K. Kudo, S. Shirakami, *Chem. Lett.* 2001, 262-263; e) R. M. Lau, F. van Rantwijk, K. R. Seddon, R. A. Sheldon, *Org. Lett.* 2000, 2, 4189-4191; f) S. Park, R. J. Kazlauskas, *J. Org. Chem.* 2001, 66, 8395-8401; g) J. Howarth, P. James, J. Dai, *Tetrahedron Lett.* 2001, 42, 7517-7519]. Flüssigkeiten dieser Art bestehen ausschließlich aus Ionen, haben praktisch keinen Dampfdruck (sind also nicht flüchtig) und zeigen gute Löslichkeitseigenschaften für viele organische Substrate [a) R. Hagiwara, Y. Ito, *J. Fluorine Chem.* 2000, 105, 221-227; b) P. Wasserscheid, W. Keim, *Angew. Chem.* 2000, 112, 3926-3945; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2000, 39, 3772-3789; c) R. Sheldon, *Chem. Commun. (Cambridge)* 2001, 2399-2407; d) T. Welton, *Chem. Rev.* 1999, 99, 2071-2083]. Deshalb wurden diese Lösungsmittel bei den unterschiedlichsten Reaktionen verwendet. Im Falle von enzymkatalysierten Prozessen gelten die gleichen ökologischen und ökonomischen Vorteile. Es wurden jedoch noch weitere Vorteile festgestellt, z. B. je nach System erhöhte Stabilität, Aktivität und Stereoselektivität der Enzyme [a) K.-W. Kim, B. Song, M.-Y. Choi, M.-J. Kim, *Org. Lett.* 2001, 3, 1507-1509; b) P. Lozano, T. De Diego, D. Carrié, M. Vaultier, J. L. Iborra, *Biotechnol. Lett.* 2001, 23, 1529-1533; c) S. H. Schöfer, N. Kaftzik, P. Wasserscheid, U. Kragl, *Chem. Commun. (Cambridge)* 2001, 425-426; d) T. Itoh, E. Akasaki, K. Kudo, S. Shirakami, *Chem. Lett.* 2001, 262-263; e) R. M. Lau, F. van Rantwijk, K. R. Seddon, R. A. Sheldon, *Org. Lett.* 2000, 2, 4189-4191; f) S. Park, R. J. Kazlauskas, *J. Org. Chem.* 2001, 66, 8395-8401; g) J. Howarth, P. James, J. Dai, *Tetrahedron Lett.* 2001, 42, 7517-7519].

Allerdings wurde bei enzymkatalysierten Reaktionen in ionischen Solventien ein grundlegendes Problem noch nicht allgemein gelöst, nämlich die einfache und umweltfreundliche Trennung des Produkts (und ggfs des Edukts) vom Enzym bzw. vom ionischen Lösungsmittel in einer Weise, die es erlaubt, das Enzym und

das Solvens erneut einzusetzen. Laut Literatur wird bei der Aufarbeitung gewöhnlich ein konventionelles organisches Lösungsmittel zur Extraktion des Produkts verwendet, was kaum sinnvoll ist, denn die Verwendung eines ionischen Lösungsmittels hat das primäre Ziel, solche umweltfeindlichen Solventien zu meiden [a) K.-W. Kim, B. Song, M.-Y. Choi, M.-J. Kim, *Org. Lett.* 2001, 3, 1507-1509; b) P. Lozano, T. De Diego, D. Carrie, M. Vaultier, J. L. Iborra, *Biotechnol. Lett.* 2001, 23, 1529-1533; c) S. H. Schöfer, N. Kaftzik, P. Wasserscheid, U. Kragl, *Chem. Commun. (Cambridge)* 2001, 425-426; d) T. Itoh, E. Akasaki, K. Kudo, S. Shirakami, *Chem. Lett.* 2001, 262-263; e) R. M. Lau, F. van Rantwijk, K. R. Seddon, R. A. Sheldon, *Org. Lett.*, 2000, 2, 4189-4191; f) S. Park, R. J. Kazlauskas, *J. Org. Chem.* 2001, 66, 8395-8401; g) J. Howarth, P. James, J. Dai, *Tetrahedron Lett.* 2001, 42, 7517-7519].

Effiziente Methoden für die Produktion von enantiomerenreinen oder enantiomerenangereicherten Verbindungen, wie z.B. biokatalysierte kinetische Racematspaltungen, sind von großer wirtschaftlicher Bedeutung [K. Drauz, H. Waldmann, *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis: A Comprehensive Handbook*, Vol. 1 und 2, Wiley-VCH, Weinheim, 1995]. Trennprozesse haben in enzymkatalysierten Reaktionen, die zu einer kinetischen Racematspaltung chiraler Verbindungen führen, besondere Bedeutung. Hierbei werden die beiden Enantiomere eines racemischen Ausgangsmaterials mit unterschiedlicher Geschwindigkeit vom Enzym umgesetzt, wobei im Idealfall nur ein Enantiomer mit hoher Selektivität in das Produkt überführt wird. Die Trennung von Produkt und Edukt kommt dann der Trennung der beiden Enantiomere gleich. Die Lipasekatalysierte enantioselektive Acylierung von racemischen Alkoholen ist hierbei als präparatives Werkzeug von besonderem Interesse. Der Hauptnachteil dieser Methode für praktische Anwendungen resultiert häufig aus der Notwendigkeit aufwändiger Trennmethoden wie z. B. chromatographischer Techniken zur Separierung des Produkt/Edukt-Gemisches.

Die vorliegende Erfindung beinhaltet eine überraschend einfache, billige und umweltfreundliche Lösung der oben angesprochenen Trennproblematiken. Zentraler Bestandteil der Erfindung ist die Idee, eine einfache und enzymschonende Abtrennung der Produkte/Edukte vom ionischen Solvens bzw. vom Enzym mit Hilfe der Extraktion durch ein komprimiertes Gas so zu

bewirken, dass das Enzym kontinuierlich und/oder mehrfach verwendet werden kann ohne nennenswerten Verlust an Aktivität oder Selektivität. Gleichzeitig erlaubt die Wahl geeigneter Extraktionsbedingungen eine Separierung von Produkt und Edukt bzw. Nebenprodukten, was bei der kinetischen Racematspaltung zu einer effektiven Enantiomerentrennung führt. Je nach Reaktionsbedingung kann, muss aber nicht, das komprimierte Gas im überkritischen Zustand sein; bevorzugt wird das Gas CO₂ im überkritischen Zustand eingesetzt.

Die Verwendung von CO₂ als Lösungsmittel für Reaktionen mit isolierten Enzymen im festen Zustand ist im Prinzip bekannt. Diese Systeme reagieren jedoch äußerst empfindlich auf die Wahl der Reaktionsbedingungen und kleine Mengen Wasser sind oftmals für die optimale Wirkungsweise notwendig [O. Aaltonen in: P. G. Jessop, W. Leitner, Chemical Synthesis Using Supercritical Fluids, Wiley-VCH, Weinheim, 1999, Kapitel 4.9, pp 414]. Überraschender Weise sind Umsetzungen im System ionische Flüssigkeit/CO₂ hingegen problemlos durchführbar und verlaufen mit hoher Langzeitstabilität. Die positiven Effekte der ionischen Flüssigkeit werden durch die Anwesenheit von CO₂ also nicht aufgehoben oder verringert, in günstigen Fällen können sie sogar verstärkt werden, z. B. indem durch Herabsetzung der Viskosität der ionischen Flüssigkeit der Stofftransport verbessert wird. Gleichzeitig erleichtert die Verwendung einer flüssigen Phase das Handling des Enzymkatalysators z.B. beim Beschicken oder Entleeren des Reaktors.

In einer Ausführungsform der Erfindung wird nach Ablauf der enzymatischen Reaktion in einem ionischen Lösungsmittel das Gemisch einer Extraktion mit einem komprimierten Gas unterworfen. Das Gas, z. B. CO₂, kann entweder erst nach erfolgter Umsetzung eingebracht werden, oder zweckmäßigerweise auch bereits während der Reaktion vorhanden sein. Wie Figur 1/3 verdeutlicht, handelt es sich um ein diskontinuierliches Verfahren: Nach Ausführung der Reaktion im Reaktor R wird das Extraktionsgas G eingeleitet. Das extrahierte Produkt und Edukt sammelt sich in der Kühlfalle K.

In einer zweiten Ausführungsform (Figur 2/3) wird ein kontinuierliches Verfahren realisiert, in dem die Edukte E und komprimiertes Gas G in den Reaktor R, der

ionische Flüssigkeit und Enzym enthält, eingebracht und die Produkte und ggf die nicht reagierten Edukte werden durch das komprimierte Gas aus dem Reaktor extrahiert. Produkt und Edukt können mit Hilfe des komprimierten Gases mehrfach im Kreis durch das Lösungsmittel geleitet werden, wodurch eine Erhöhung des Umsatzes erreicht wird.

Als Extraktionsmittel dienen komprimierte Gase, wie z. B. CO₂, NH₃, SF₆, Ethan, Fluoroform, Propan, Butan, iso-Butan, iso-Buten, Butadien, Ethin, Ethen, Propen, Buten, Edelgase, Sauerstoff oder ein gasförmiger, nicht, teilweise oder vollständig halogensubstituierter Kohlenwasserstoff, um nur einige zu nennen. Die Gase können in reiner Form oder in Form von Mischungen eingesetzt werden. Den Gasen können auch kleine Mengen eines oder mehrerer Additiva zugesetzt werden, wodurch zum Beispiel eine Verbesserung der Lösungseigenschaften des Reaktionsmediums resultieren kann. Solche Additiva können beispielsweise unabhängig gewählt werden aus: Wasser, Amine, perfluorierte Verbindungen, organische Lösungsmittel (z. B. Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, 1,2-Dichlorethan, Trichlorethen, Benzol, Toluol, Xylol, Cumol, Hexan, Cyclohexan, Halogenbenzole, Tetrahydrofuran, *tert*-Butylmethylether, Diethylether, Dimethoxyethan, Dimethylformamid, Acetessigester, Aceton, Dimethylcarbonat, Alkohole).

Vorzugsweise wird in dem hier beschriebenen Verfahren als Gas CO₂ verwendet. Im Falle von CO₂ wird das Extrakt in lösungsmittelfreier Form ohne nachweisbare Kontamination mit ionischer Flüssigkeit erhalten, da diese Lösungsmittel keine nachweisbare Löslichkeit in komprimiertem CO₂ besitzen [L. A. Blanchard, D. Hancu, E. J. Beckman, J. F. Brennecke, *Nature* 1999, 399, 28-29]. Mögliche Vorgehensweisen zur Isolierung der Produkte beinhalten unter anderem ein einfaches Entspannen des Gases bis zur Abscheidung des Produkts oder eine geeignete Veränderung der Temperatur. Das Auswaschen der Produkte aus dem Gasstrom durch geeignete Lösungsmittel erlaubt ebenfalls eine zweckmäßige Form der Aufarbeitung.

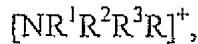
Durch eine gezielte Wahl der Extraktionsbedingungen wird eine selektive Separierung der Produkte, Edukte und/oder Nebenprodukte aus der Reaktionsmischung möglich. Mögliche Vorgehensweisen beinhalten eine

geeignete Veränderung der Temperatur und/oder ein definiertes Entspannen des Gases zur sequentiellen Abscheidung von einzelnen Komponenten der Reaktionsmischung. Im Falle einer kinetischen Racematspaltung erfolgt so eine effektive Trennung der Enantiomeren, wie am Beispiel der Lipase-katalysierten Veresterung chiraler Alkohole im System ionische Flüssigkeit/CO₂ verdeutlicht werden kann. Der racemische Alkohol und das Acylierungsmittel werden dabei mit dem CO₂-Strom als mobile Phase in den Reaktor eingebracht. Dort wird eines der beiden Enantiomere selektiv von der Lipase in der ionischen Flüssigkeit verestert, das Produktgemisch wird kontinuierlich mit CO₂ extrahiert. Der Ester und der nicht umgesetzte Alkohol werden durch kontrollierte Variation der Temperatur und des Druckes von einander getrennt. Durch die unterschiedlichen CO₂-Löslichkeiten von Alkohol und Ester kann so die kontinuierliche Enantiomeren-Trennung erfolgen. Überraschender Weise finden wir, dass dabei insbesondere dann eine effiziente Trennwirkung resultiert, wenn die Löslichkeit des Esters durch die Wahl eines geeigneten Acylierungsmittels so beeinflusst wird, dass sie niedriger ist als die Löslichkeit des entsprechenden Alkohols. Dies kann beispielsweise durch Verwendung von langkettiger Carbonsäuren oder deren Ester wie dem billigen und gut verfügbaren Vinyllaureat erreicht werden. Eine Versuchsanordnung zur praktischen Umsetzung ist exemplarisch in Figur 3/3 abgebildet.

Als ionisches Lösungsmittel dienen alle bekannten ionischen Flüssigkeiten und deren Mischungen. Diese Solventien besitzen die allgemeine Formel [A]ⁿ⁺ [Y]ⁿ⁻, wobei n = 1 oder 2 ist und das Anion [Y]ⁿ⁻ ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Tetrafluoroborat ([BF₄]), Tetrachloroborat ([BCl₄]), Hexafluorophosphat ([PF₆]), Hexafluoroantimonat ([SbF₆]), Hexafluoroarsenat ([AsF₆]), Tetrachloroaluminat ([AlCl₄]), Trichlorozinkat [(ZnCl₃)⁻], Dichlorocuprat ([CuCl₂]⁻), Sulfat ([SO₄]²⁻), Carbonat ([CO₃]²⁻), Fluorosulfonat, [R'-COO]⁻, [R'-SO₃]⁻, [R'-SO₄]⁻, [Tetrakis-(3,5-bis-(trifluormethyl)-phenyl)borat] ([BARF]) und [(R'-SO₂)₂N]⁻, und R' ein linearer oder verzweigter 1 bis 12 Kohlenstoffatome enthaltender aliphatischer oder alicyclischer Alkyl- oder ein C₅-C₁₈-Aryl-, C₅-C₁₈-Aryl-C₁-C₆-alkyl- oder C₁-C₆-Alkyl-C₅-C₁₈-aryl-Rest ist, der durch Halogenatome substituiert sein kann,

und das Kation [A]⁺ ausgewählt ist aus der Reihe bestehend aus

- quarternären Ammonium-Kationen der allgemeinen Formel



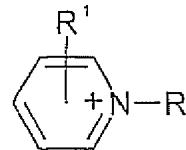
- Phosphonium-Kationen der allgemeinen Formel

$$[PR^1R^2R^3R]^+$$
- Imidazolium-Kationen der allgemeinen Formel



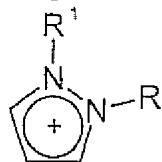
wobei der Imidazol-Kern substituiert sein kann mit wenigstens einer Gruppe, die ausgewählt ist aus der Reihe bestehend aus C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, C₁-C₆-Aminoalkyl-, C₅-C₁₂-Aryl- und C₅-C₁₂-Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen,

- Pyridinium-Kationen der allgemeinen Formel



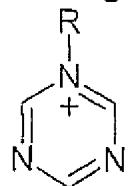
wobei der Pyridin-Kern substituiert sein kann mit wenigstens einer Gruppe, die ausgewählt ist aus der Reihe bestehend aus C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, C₁-C₆-Aminoalkyl-, C₅-C₁₂-Aryl- und C₅-C₁₂-Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen,

- Pyrazolium-Kationen der allgemeinen Formel



wobei der Pyrazol-Kern substituiert sein kann mit wenigstens einer Gruppe, die ausgewählt ist aus der Reihe bestehend aus C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, C₁-C₆-Aminoalkyl-, C₅-C₁₂-Aryl- und C₅-C₁₂-Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen,

- und Triazolium-Kationen der allgemeinen Formel



wobei der Triazol-Kern substituiert sein kann mit wenigstens einer Gruppe, die ausgewählt ist aus der Reihe bestehend aus C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, C₁-C₆-Aminoalkyl-, C₅-C₁₂-Aryl- und C₅-C₁₂-Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen,

und die Reste R^1 , R^2 , R^3 unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus

- Wasserstoff;
- linearen oder verzweigten, gesättigten oder ungesättigten, aliphatischen und alicyclischen Alkylgruppen mit 1 bis 20 Kohlenstoffatomen;
- Heteroaryl-, Heteroaryl-C₁-C₆-Alkylgruppen mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen im Heteroaryl-Rest und wenigstens einem Heteroatom ausgewählt aus N, O und S, der mit wenigstens einer Gruppe ausgewählt aus C₁-C₆-Alkylgruppen und Halogenatomen substituiert sein kann;
- Aryl-, Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen mit 5 bis 12 Kohlenstoffatomen im Arylrest, die gegebenenfalls mit wenigstens einer C₁-C₆-Alkylgruppen oder einem Halogenatomen substituiert sein können;

und der Rest R ausgewählt ist aus

- linearen oder verzweigten, gesättigten oder ungesättigten, aliphatischen oder alicyclischen Alkylgruppen mit 1 bis 20 Kohlenstoffatomen;
- Heteroaryl-C₁-C₆-Alkylgruppen mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen im Arylrest und wenigstens einem Heteroatom ausgewählt aus N, O und S, die mit wenigstens einer C₁-C₆-Alkylgruppe oder Halogenatom substituiert sein können;

Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen mit 5 bis 12 Kohlenstoffatomen im Arylrest, die gegebenenfalls mit wenigstens einer C₁-C₆-Alkylgruppe oder einem Halogenenatomen substituiert sein können. Diese Liste ist ebenfalls nicht vollständig, so dass auch hier keine prinzipiellen Einschränkungen vorliegen [a) R. Hagiwara, Y. Ito, *J. Fluorine Chem.* 2000, 105, 221-227; b) P. Wasserscheid, W. Keim, *Angew. Chem.* 2000, 112, 3926-3945; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2000, 39, 3772-3789; c) R. Sheldon, *Chem. Comm. (Cambridge)* 2001, 2399-2407; d) T. Welton, *Chem. Rev.* 1999, 99, 2071-2083].

Im Rahmen der Erfindung ist es auch möglich, dem ionischen Lösungsmittel Wasser zuzugeben, z. B. wenn das Wasser als Reagenz bei einer hydrolytischen Reaktion dient.

Was die Wahl der Enzyme angeht, so kommen Oxidoreductasen, Transferasen, Hydrolasen, Lyasen, Isomerasen und Ligasen in Frage. Dies bedeutet, dass die erfindungsgemäßen Verfahren Oxidations- und Reduktionsreaktionen, Transfer von funktionellen Gruppen, Hydrolysereaktionen, Eliminierungs- und Additions-

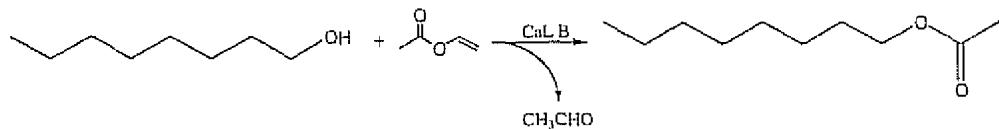
reaktionen sowie Triphosphatpaltungs-bedingte Bindungsbildungsprozesse mit einschließen.

Einzelne Enzym-Familien sind z. B. Lipasen, Esterasen, Proteasen, Amidasen, Nitrilasen, Nitrilhydratasen, Epoxidhydrolasen, Dehydrogenasen, Monooxygenasen, Dioxygenasen, Peroxidasen, Aldolasen, Transketolasen, Pyruvat-decarboxylasen, Oxinitrilasen, Glycosidasen, Glycosyltransferasen, Kohlenstoff-Sauerstoff-Lyasen, Kohlenstoff-Stickstoff-Lyasen, Aminotransferasen, Kinasen und Epimerasen. Diese Liste ist keineswegs vollständig und schränkt den Anwendungsbereich der Erfindung nicht ein.

Die Enzyme können in isolierter Form, als Rohextrakt oder in immobilisierter Form eingesetzt werden. Es können aber auch ganze Zellen, die bestimmte katalytisch aktive Enzyme enthalten, eingesetzt werden.

In der Literatur gelten katalytische Antikörper und Ribozyme als spezielle Form von Enzymen [a) P. G. Schultz, R. A. Lerner, *Science* 1995, 269, 1835-1842; b) C. Wilson, J. W. Szostak, *Nature* 1995, 374, 777-782]. Die vorliegende Erfindung schließt sie ein, d. h. die Produkte und Edukte einer Antikörper-katalysierten Stoffumwandlung in einem ionischen Lösungsmittel können mit Hilfe der CO₂-vermittelten Extraktion vom ionischen Solvens und vom katalytischen Antikörper bequem abgetrennt werden, wobei der katalytische Antikörper erneut eingesetzt werden kann.

Beispiel 1: Lipase-katalysierte Acylierung von 1-Octanol mit Vinylacetat als Acylierungsmittel in ionischer Flüssigkeit (IL) gekoppelt mit Produktextraktion durch überkritisches Kohlenstoffdioxid (scCO₂)



Beispiel 1.1: Diskontinuierliches Verfahren mit einem Überschuss an Acylierungsmittel ohne CO₂ während der Reaktionszeit

In einem Autoklav (Reaktorvolumen 10 ml) mit Rührfisch wurden zu einer Suspension aus 10 mg *Candida antarctica* Lipase B (CaL B) in 2 ml der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methyl-imidazolium-bis-trifluormethansulfonimid (bmimNTf₂), 1.5 ml Vinylacetat (VA) (17 mmol) und 1.3 ml 1-Octanol (8.3 mmol) gegeben. Anschließend wurde für 0.5 Stunden bei Raumtemperatur (RT) gerührt. Danach wurde der Autoklav an einen CO₂-Kompressor angeschlossen, das Reaktionsprodukt bei 40 °C mit überkritischem CO₂ bei 9.2 MPascal extrahiert und in einer Kühlzelle (T = -30 °C) aufgefangen (siehe Figur 1/3). Zur Extraktion wurden 33 l Kohlendioxid verwendet.

Nach einer fünfminütigen Entgasung des Substrat-Eduktgemisches im Ultraschallbad betrug die aufgefangene Menge an Flüssigkeit nach Rückwiegung der verwendeten Kühlzelle 1.58 g. Durch NMR-Untersuchungen ergab sich ein molares Verhältnis zwischen 1-Octylacetat und Vinylacetat von 2.0 : 1. Nicht umgesetztes 1-Octanol wurde nicht nachgewiesen. Aus dem NMR-Verhältnis und dem Ergebnis der Rückwiegung der Kühlzelle errechnete sich eine isolierte Menge von 1.32 g 1-Octylacetat, was einer Ausbeute von 92.4 % entspricht.

Die Versuchsdurchführung wurde mit derselben CaL B-bmimNTf₂-Suspension noch weitere dreimal durchgeführt, wobei die Extraktionsbedingungen (Temperatur, Druck, CO₂-Menge) variiert wurden. Die Ergebnisse werden zusammengefasst in Tabelle 1 dargestellt:

Recycling-zyklus	Aufgefangene Menge [g]	NMR-Verhältnis Octylacetat/VA	isoliertes Octylacetat [g]	Extraktionsbedingungen		CO ₂ -Menge [L]	Ausbeute [%]
				T [°C]	p [MPascal]		
0	1.58	2/1	1.32	40	9.2	33	92.4
1	1.75	1.53/1	1.39	38	10.0	39	97.4
2	1.75	1.59/1	1.40	40	9.5	40	98.2
3	1.75	1.59/1	1.40	38	10.0	12	98.2

Tabelle 1

Beispiel 1.2: Diskontinuierliches Verfahren mit einem Überschuss an Acylierungsmittel unter CO₂-Druck während der Reaktionszeit

In einem Autoklav (Reaktorvolumen 10 ml) mit Rührfisch wurden zu einer Suspension aus 10 mg *Candida antarctica* Lipase B (CaL B) in 2 ml der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methyl-imidazolium-bis-trifluormethansulfonimid (bmimNTf₂), 1.5 ml Vinylacetat (VA) (17 mmol) und 1.3 ml 1-Octanol (8.3 mmol) gegeben. Anschließend wurde mittels eines Kompressors CO₂ (6.5 g) aufgepresst und das Reaktionsgemisch für 0.5 Stunden bei Raumtemperatur (RT) gerührt. Danach wurde das Reaktionsprodukt bei 40 °C mit überkritischem CO₂ bei 9.2 MPascal extrahiert und in einer Kühlfalle (T = -30 °C) aufgefangen (siehe Figur 1/3). Zur Extraktion wurden 38 l Kohlendioxid verwendet.

Nach einer fünfminütigen Entgasung des Substrat-Eduktgemisches im Ultraschallbad betrug die aufgefangene Menge an Flüssigkeit nach Rückwiegung der verwendeten Kühlfalle 1.57 g. Durch NMR-Untersuchungen ergab sich ein molares Verhältnis zwischen 1-Octylacetat und Vinylacetat von 2.0 : 1. Nicht umgesetztes 1-Octanol wurde nicht nachgewiesen. Aus dem NMR-Verhältnis und dem Ergebnis der Rückwiegung der Kühlfalle errechnete sich eine isolierte Menge von 1.32 g 1-Octylacetat, was einer Ausbeute von 92.4 % entspricht.

Beispiel 1.3: Diskontinuierliches Verfahren ohne Überschuss an Acylierungsmittel ohne CO₂ während der Reaktionszeit

In einem Autoklav (Reaktorvolumen 10 ml) mit Rührfisch wurden zu einer Suspension aus 10 mg *Candida antarctica* Lipase B (CaL B) in 2 ml der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methyl-imidazolium-bis-trifluormethansulfonimid (bmimNTf₂), 1.09 g Vinylacetat (VA) (12.7 mmol) und 1.58 g 1-Octanol (12.1 mmol) gegeben. Anschließend wurde für 1 Stunde bei Raumtemperatur (RT) gerührt. Danach wurde der Autoklav an einen CO₂-Kompressor angeschlossen, das Reaktionsprodukt bei 40 °C mit überkritischem CO₂ bei 12 MPascal extrahiert und in einer Kühlfalle (T = -30 °C) aufgefangen (siehe Figur 1/3). Nach Extraktion mit 56 l Kohlendioxid wurden 1.86 g Flüssigkeit aufgefangen (Auswaage nach fünfminütiger Entgasung im Ultraschallbad). NMR-

Untersuchungen ergaben einen Gehalt von über 99 % Prozent an Octylacetat, was mit der Auswaage einer isolierten Ausbeute von 89.6 % entspricht.

Beispiel 1.4: Kontinuierliches Verfahren mit einem Überschuss an Acylierungsmittel

In einen Autoklav (Reaktorvolumen 10 ml) mit Rührfisch wurde eine Suspension aus 40 mg *Candida antarctica* Lipase B (CaL B) in 4 ml der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methyl-imidazolium-bis-trifluormethansulfonimid (bmimNTf₂) eingefüllt und dieser an einen CO₂-Kompressor angeschlossen. Der Autoklav wurde auf 45 °C erwärmt, mit überkritischem Kohlendioxid (p = 10.5 MPascal) durchspült und eine Substratlösung (Vinylacetat : 1-Octanol = 2 : 1) mittels einer HPLC-Pumpe (Flussrate 2.25 ml/h) mit dem überkritischen CO₂-Strom in den Reaktor gebracht (siehe Figur 2/3).

Das extrahierte Reaktionsprodukt wurde in Kühlfallen aufgefangen, die in regelmäßigen Abständen gewechselt wurden (siehe Tabelle 2). Die aufgefangenen Produktfraktionen wurden NMR-spektroskopisch untersucht. Aus den NMR-Signalen wurde der Umsatz (Verhältnis Octylacetat zu 1-Octanol) und der Gehalt an Octylacetat in den jeweiligen Kühlfallen berechnet.

Kühl- falle nach gewechselt	Aufgefan- gene Menge	isolierte Menge Octylacetat	CO ₂ -Menge [L]	Umsatz [%]	relative Ausbeute [%]	Aktivität [μmol/min·g]
[h]	[g]	[g]	[L]	[%]	[%]	[μmol/min·g]
01	0.7	0.16	0.12	3	89.1	15.3
02	2.3	2.22	1.62	19	94.4	87.8
03	3.8	2.10	1.70	39	94.0	98.5
04	6.3	3.40	2.72	53	92.6	94.3
05	15.5	14.23	10.59	177	95.4	99.8
06	21.1	8.84	6.41	229	96.4	99.3
07	24.	5.06	3.81	267	95.0	104.8
total	24	36.01	26.99	267	96.4	2395

Tabelle 2

Die relative Ausbeute errechnete sich aus der isolierten Menge Octylacetat, aus der Zeit und der Flussrate der HPLC-Pumpe. Die angegebene Aktivität bezieht sich auf die eingesetzte Menge Lipase und umgesetzte Menge 1-Octanol.

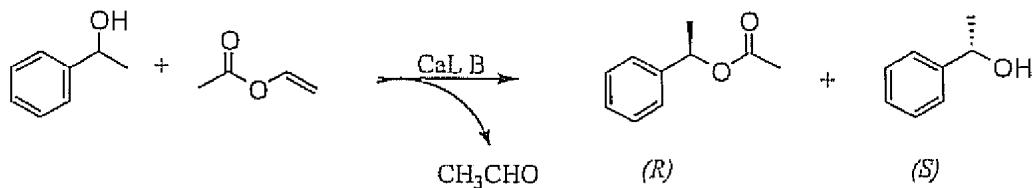
Beispiel 1.5: Stabilität von Lipase bei der Lagerung in ionischer Flüssigkeit unter CO₂-Druck

In einem Autoklav (Reaktorvolumen 10 ml) mit Rührfisch wurde eine Suspension aus 40 mg *Candida antarctica* Lipase B (CaL B) in 4 ml der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methyl-imidazolium-bis-trifluormethansulfonimid (bmimNTf₂) analog zu Beispiel 1.4 für 24 h im kontinuierlichen Prozess betrieben. Anschließend wurde der Autoklav verschlossen und der Inhalt für 60 h unter 10.5 MPascal CO₂-Druck gerührt. Nach 60 h wurde der kontinuierliche Betrieb analog zu Beispiel 1.4 wieder aufgenommen. Die Ergebnisse werden in Tabelle 3 dargestellt:

Kühl- falle	Gewech- selt nach	aufgefange ne Menge	isolierte Menge Octylacetat	CO ₂ - Menge	Umsatz	relative Ausbeute	Aktivität
							[μmol/ min·g]
		[h]	[g]	[L]	[%]	[%]	
01	2	3.18	2.41	3	93.5	104.3	2916
02	5	7.07	5.13	19	92.5	148.3	4145
03	9.5	6.76	4.96	39	90.6	95.6	2671
04	24.5	21.38	15.88	53	90.3	91.7	2564
total	24.5	38.39	28.38	267		100.4	3074

Tabelle 3

Beispiel 2: Lipase-katalysierte enantioselektive Acylierung von (\pm)-1-Phenylethanol mit Vinylacetat als Acylierungsmittel in ionischer Flüssigkeit gekoppelt mit Produktextraktion durch überkritisches CO_2



Beispiel 2.1: Diskontinuierliches Verfahren mit einem Überschuss an Alkohol

In einem Autoklav (Reaktorvolumen 10 ml) mit Rührfisch wurden zu einer Suspension aus 100 mg *Candida antarctica* Lipase B (CaL B) in 2 ml der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methyl-imidazolium-bis-trifluormethansulfonimid (bmimNTf₂), 0.5 ml Vinylacetat (VA) (5 mmol) und 1.2 ml (\pm)-1-Phenylethanol (10 mmol) gegeben. Anschließend wurde für 1 Stunden bei Raumtemperatur (RT) gerührt. Danach wurde der Autoklav an einen CO_2 -Kompressor angeschlossen, das Reaktionsprodukt bei 45 °C mit überkritischem CO_2 bei 11.0 MPascal extrahiert und in einer Kühlzelle ($T = -30^\circ\text{C}$) aufgefangen (siehe Figur 1/3). Zur Extraktion wurden 100 l Kohlendioxid verwendet.

Nach einer fünfminütigen Entgasung des Substrat-Eduktgemisches im Ultraschallbad betrug die aufgefangene Menge an Flüssigkeit nach Rückwiegung der verwendeten Kühlzelle 1.66 g. Durch NMR-Untersuchungen ergab sich ein molares Verhältnis zwischen 1-Phenylethylacetat, Vinylacetat und 1-Phenylethanol von 1 : 1.23 : 0.9, was mit dem Ergebnis der Rückwiegung der Kühlzelle einer isolierten Ausbeute von 0.77 g 1-Phenylethylacetat entspricht. Die Enantioselektivität wurde per GC bestimmt. Der bestimmte Enantiomereüberschuss betrug für den Alkohol 97.5 % (S) und für den Ester 99.5 % (R).

Die Versuchsdurchführung wurde mit derselben CaL B-bmimNTf₂-Suspension noch weitere dreimal wiederholt, wobei die Reaktionszeit und die Extraktionsbedingung (Temperatur, Druck, CO_2 -Verbrauch) variiert wurden. Die Ergebnisse werden zusammengefasst in Tabelle 4 dargestellt:

Recyc- ling- zyklus	Reak- tions- zeit	Aufge- fangene Menge	NMR- Verhältnis Phenylethyl- acetat/VA/ Phenylethanol	Extraktions- bedingungen		CO ₂ - Menge	ee (Alkohol)	ee (Ester)	relative Ausbeute Phenyl- ethylacetat
				T	P				
	[h]	[g]		[°C]	[MPascal]	[L]	[%]	[%]	[%]
0	1	1.66	1 / 1.23 / 0.9	45	11.0	100	97.9	99.5	44.6
1	0.8	1.57	1 / 0.27 / 1.09	40	12.0	28	83.0	98.7	43.1
2	1.2	1.50	1 / 0.09 / 0.99	41	12.0	20	95.2	99.4	46.7
3	12	1.58	1 / 0 / 1.04	40	12.0	40	99.6	98.6	51.4

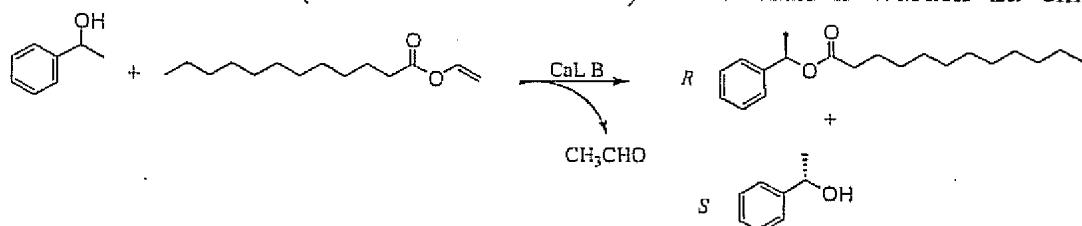
Tabelle 4

Beispiel 2.2: Kontinuierliches Verfahren mit einem Überschuss an Acylierungsmittel

In einen Autoklav (Reaktorvolumen 10 ml) mit Rührfisch wurde eine Suspension aus 40 mg *Candida antarctica* Lipase B (CaL B) in 4 ml der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methyl-imidazolium-bis-trifluormethansulfonimid (bmimNTf₂) eingefüllt und dieser an einen CO₂-Kompressor angeschlossen. Der Autoklav wurde auf 45 °C erwärmt, mit überkritischem Kohlendioxid (p = 10.5 MPascal) durchspült und eine Substratlösung (Vinylacetat : (±)-1-Phenylethanol = 2 : 1) mittels einer HPLC-Pumpe (Flussrate 0.6 ml/h) mit dem überkritischen CO₂-Strom in den Reaktor gebracht (siehe Figur 2/3). Der Reaktor wurde 3.5 h betrieben, das extrahierte Reaktionsprodukt in einer Kühlfallen aufgefangen und diese nach einer fünfminütigen Entgasung im Ultraschallbad zurückgewogen (Ausbeute: 0.711 g Flüssigkeit). Durch NMR-Untersuchungen, des aufgefangenen Produktes, ergab sich ein molares Verhältnis zwischen 1-Phenylethylacetat und 1-Phenylethanol von 1 : 0.68. Die Enantioselektivität wurde per GC bestimmt. Der bestimmte Enantiomereüberschuss betrug für den Alkohol 88.2 % (S) und für den Ester 99.5% (R).

Beispiel 3: Lipase-katalysierte enantioselektive Acylierung von (\pm)-1-Phenylethanol mit Laurinsäurevinylester als Acylierungsmittel in ionischer Flüssigkeit gekoppelt mit einer selektiven Produktextraktion durch überkritisches CO_2

In einem Autoklav (Reaktorvolumen 10 ml) mit Rührfisch wurden zu einer



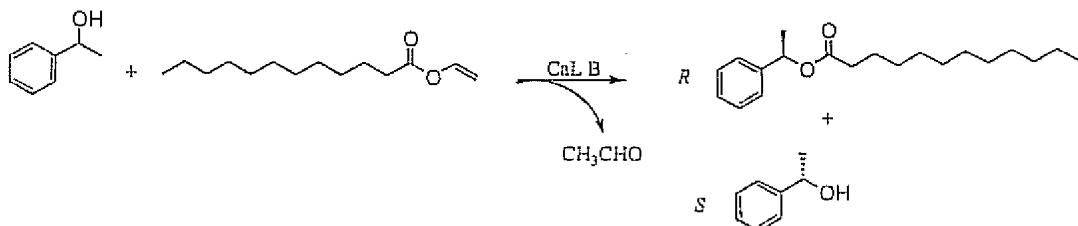
Suspension aus 10 mg *Candida antarctica* Lipase B (CaL B) in 2 ml der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methyl-imidazolium-bis-trifluormethansulfonimid (bmimNTf₂), 1.11 g Laurinsäurevinylester (4.9 mmol) und 1.27 g (\pm)-1-Phenylethanol (10.4 mmol) gegeben. Anschließend wurde für 2 Stunden bei Raumtemperatur (RT) gerührt. Danach wurde der Autoklav an einen CO_2 -Kompressor angeschlossen (siehe Figur 1/3), das Reaktionsprodukt mit überkritischem CO_2 bei verschiedenen Temperaturen und Drücken extrahiert und in verschiedenen Kühlfallen ($T = 0^\circ\text{C}$), die in regelmäßigen Abständen gewechselt wurden, aufgefangen (siehe Tabelle 5).

Nummer der Kühlfalle	aufgefangene Menge/ Kühlfalle	Extraktionsbedingungen			NMR-Verhältnis Phenylethyllaurat / Phenylethanol	ee (Alkohol)	ee (Ester)
		[g]	T [°C]	p [MPascal]		[%]	[%]
1. Extrakt	0.42	50	7.5→10.5	30	1 / 4.4	75.5	99.8
2. Extrakt	0.38	50	10.5	40	1 / 1.6	89.1	99.7
3. Extrakt	0.64	40	12.5	60	2 / 1	78.2	99.7

Die Enantiomerenüberschüsse wurden per HPLC bestimmt

Tabelle 5

Beispiel 4: Lipase-katalysierte enantioselektive Acylierung von (\pm) -1-Phenylethanol mit Laurinsäurevinylester als Acylierungsmittel in ionischer Flüssigkeit gekoppelt mit einer effektiven Trennung der Enantiomeren durch Separierung von Produkt und Edukt mit überkritischem CO_2



Eine Mischung aus (\pm) -1-Phenylethanol und Laurinsäurevinylester (molares Verhältnis 1 : 2) wurde in der in Figur 3/3 gezeigten Apparatur mittels einer HPLC-Pumpe mit einer Flussrate von 0.6 ml/h in den CO_2 -Strom eingebracht. Die mobile Phase passierte eine Kaskade aus zwei kleinen Reaktoren ($V=10$ ml und 15 ml), die mit insgesamt 750 mg immobilisierter CaL B als Suspension in der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methyl-imidazolium-hexafluorophosphat (bmimPF₆, 3 ml und 8 ml) gefüllt waren. Der CO_2 -Strom wurde anschließend in einen ersten Druckbehälter entspannt ($V=225$ ml, $T=70$ °C, $P=130$ bar), in dem sich eine flüssige Phase bildete. Die Extraktion wurde mit zusätzlichem CO_2 fortgesetzt und der Gasstrom in einen zweiten Druckbehälter ($V=100$ ml, $T=100$ °C, $p=100$ bar) geleitet, in dem sich ebenfalls eine flüssige Phase bildete, die ständig in den ersten Abscheider zurück gepumpt wurde. Der chirale Alkohol (*S*)-1-Phenylethanol wurde kontinuierlich beim vollständigen Entspannen in der Kühlzelle aufgefangen, während sich der Laurinsäureester von (*R*)-1-Phenylethanol im ersten Abscheider anreicherte. Nach einem kontinuierlichen Betrieb von 112 h, wurde die Substratzugabe gestoppt und die Extraktion fortgeführt bis kein Alkohol mehr im Extrakt nachgewiesen werden konnte. Insgesamt wurden 5.1 g (81 % theoretische Ausbeute) des (*S*)-1-Phenylethanol mit einem ee > 97 % und einer Kontamination < 0.1 % des Laurinsäureesters von (*R*)-1-Phenylethanol in den Kühlzellen aufgefangen. Aus dem ersten Extrakt wurde der Laurinsäureester von (*R*)-1-Phenylethanol (15.2 g, 97 %), mit einem ee > 97 %, mit einem Gehalt von < 0.5 % an (*S*)-1-Phenylethanol erhalten. Beide Fraktionen enthalten unumgesetzten Laurinsäurevinylester, der nach bekannten Methoden abgetrennt werden kann. Nach erneutem Einschalten des Substratflusses konnte der Betrieb mit identischen Aktivitäten und Selektivitäten fortgeführt werden, was die Langzeit-Stabilität des Biokatalysators unter diesen Reaktionsbedingungen bestätigt.

Ansprüche

1. Verfahren zur Durchführung einer enzymatischen Reaktion in einem aus ein oder mehreren ionischen Flüssigkeiten bestehenden Lösungsmittel, dadurch gekennzeichnet, dass Produkte oder Edukte mittels einer Extraktion mit einem komprimierten Gas vom Lösungsmittel und vom Enzym abgetrennt werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei Reaktion und Extraktion in einem diskontinuierlichen Verfahren in einem Batch-Reaktor erfolgen.
3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei die enzymatische Reaktion in Anwesenheit des komprimierten Gases durchgeführt wird, das auch bei der sich anschließenden Extraktion verwendet wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1, wobei Reaktion und Extraktion in einem kontinuierlichen Verfahren erfolgen.
5. Verfahren nach Anspruch 4, wobei die Edukte und komprimiertes Gas in den Reaktor eingebracht werden und die Produkte zusammen mit den nicht reagierten Edukten mit Hilfe des komprimierten Gases aus dem Reaktor extrahiert werden.
6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei Produkt und Edukt mit Hilfe des komprimierten Gases mehrfach im Kreis durch das Lösungsmittel geleitet werden.
7. Verfahren nach Ansprüchen 1 – 6, wobei mit dem komprimierten Gas selektiv Produkte, Edukte und/oder Nebenprodukte extrahiert werden.
8. Verfahren nach Anspruch 1-7, wobei Produkte, Edukte und/oder Nebenprodukte durch Variation der Extraktionsbedingungen Druck und Temperatur selektiv getrennt werden.

9. Verfahren nach Anspruch 7-8, wobei die enzymatische Reaktion eine kinetische Racematspaltung ist.

10. Verfahren gemäß Ansprüchen 1 - 9, wobei als ionische Flüssigkeit eine der allgemeinen Formel

$[A]^{n+} [Y]^{n-}$ verwendet wird,

wobei $n = 1$ oder 2 ist und

das Anion $[Y]^{n-}$ ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Tetrafluoroborat ($[BF_4]^-$), Tetrachloroborat ($[BCl_4]^-$), Hexafluorophosphat ($[PF_6]^-$), Hexafluoroantimonat ($[SbF_6]^-$), Hexafluoroarsenat ($[AsF_6]^-$), Tetrachloroaluminat ($[AlCl_4]^-$), Trichlorozinkat ($[ZnCl_3]^-$), Dichlorocuprat ($[CuCl_2]^-$), Sulfat ($[SO_4]^{2-}$), Carbonat ($[CO_3]^{2-}$), Fluorosulfonat, $[R'-COO]^-$, $[R'-SO_3]^-$, $[R'-SO_4]^-$, [Tetrakis-(3,5-bis-(trifluormethyl)-phenyl)borat] ($[BARF]$) und $[(R'-SO_2)_2N]^-$, und R' ein linearer oder verzweigter 1 bis 12 Kohlenstoffatome enthaltender aliphatischer oder alicyclischer Alkyl- oder ein C_5 - C_{18} -Aryl-, C_5 - C_{18} -Aryl- C_1 - C_6 -alkyl- oder C_1 - C_6 -Alkyl- C_5 - C_{18} -aryl-Rest ist, der durch Halogenatome substituiert sein kann,

und das Kation $[A]^+$ ausgewählt ist aus der Reihe bestehend aus

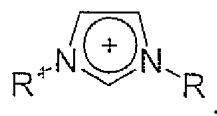
- quarternären Ammonium-Kationen der allgemeinen Formel

$[NR^1R^2R^3R]^+$,

- Phosphonium-Kationen der allgemeinen Formel

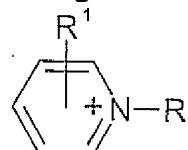
$[PR^1R^2R^3R]^+$,

- Imidazolium-Kationen der allgemeinen Formel



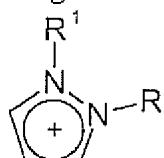
wobei der Imidazol-Kern substituiert sein kann mit wenigstens einer Gruppe, die ausgewählt ist aus der Reihe bestehend aus C_1 - C_6 -Alkyl-, C_1 - C_6 -Alkoxy-, C_1 - C_6 -Aminoalkyl-, C_5 - C_{12} -Aryl- und C_5 - C_{12} -Aryl- C_1 - C_6 -Alkylgruppen,

- Pyridinium-Kationen der allgemeinen Formel



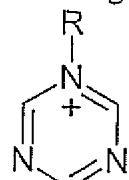
wobei der Pyridin-Kern substituiert sein kann mit wenigstens einer Gruppe, die ausgewählt ist aus der Reihe bestehend aus C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, C₁-C₆-Aminoalkyl-, C₅-C₁₂-Aryl- und C₅-C₁₂-Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen,

- Pyrazolium-Kationen der allgemeinen Formel



wobei der Pyrazol-Kern substituiert sein kann mit wenigstens einer Gruppe, die ausgewählt ist aus der Reihe bestehend aus C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, C₁-C₆-Aminoalkyl-, C₅-C₁₂-Aryl- und C₅-C₁₂-Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen,

- und Triazolium-Kationen der allgemeinen Formel



wobei der Triazol-Kern substituiert sein kann mit wenigstens einer Gruppe, die ausgewählt ist aus der Reihe bestehend aus C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₆-Alkoxy-, C₁-C₆-Aminoalkyl-, C₅-C₁₂-Aryl- und C₅-C₁₂-Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen,

und die Reste R¹, R², R³ unabhängig voneinander ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus

- Wasserstoff;
- linearen oder verzweigten, gesättigten oder ungesättigten, aliphatischen und alicyclischen Alkylgruppen mit 1 bis 20 Kohlenstoffatomen;
- Heteroaryl-, Heteroaryl-C₁-C₆-Alkylgruppen mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen im Heteroaryl-Rest und wenigstens einem Heteroatom ausgewählt aus N, O und S, der mit wenigstens einer Gruppe ausgewählt aus C₁-C₆-Alkylgruppe und Halogenatom substituiert sein kann;
- Aryl-, Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen mit 5 bis 12 Kohlenstoffatomen im Arylrest, die gegebenenfalls mit wenigstens einer C₁-C₆-Alkylgruppen oder einem Halogenatomen substituiert sein können;

und der Rest R ausgewählt ist aus

- linearen oder verzweigten, gesättigten oder ungesättigten, aliphatischen oder alicyclischen Alkylgruppen mit 1 bis 20 Kohlenstoffatomen;
- Heteroaryl-C₁-C₆-Alkylgruppen mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen im Arylrest und wenigstens einem Heteroatom ausgewählt aus N, O und S, die mit wenigstens einer C₁-C₆-Alkylgruppe oder Halogenatom substituiert sein können;
- Aryl-C₁-C₆-Alkylgruppen mit 5 bis 12 Kohlenstoffatomen im Arylrest, die gegebenenfalls mit wenigstens einer C₁-C₆-Alkylgruppe oder einem Halogenenatom substituiert sein können.

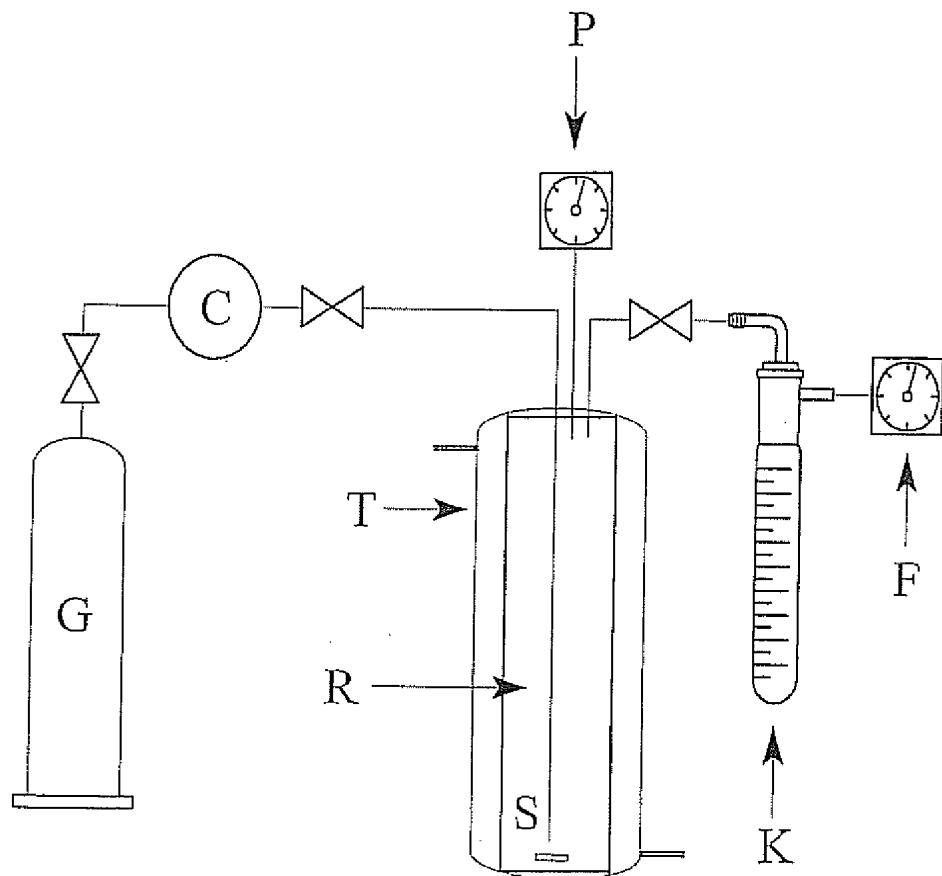
11. Verfahren nach Ansprüchen 1 – 10, wobei das verwendete komprimierte Gas gewählt ist aus der Liste CO₂, NH₃, SF₆, Ethan, Fluoroform, Propan, Butan, iso-Butan, iso-Buten, Butadien, Ethin, Ethen, Propen, Buten, Edelgase, Sauerstoff, gasförmige, nicht, teilweise oder vollständig halogen-substituierte Kohlenwasserstoffe.
12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei eine Mischung von Gasen verwendet wird.
13. Verfahren nach Anspruch 11-12, wobei das Gas oder die Gasmischung zusätzliche Additiva enthält.
14. Verfahren nach Anspruch 13, wobei die Additiva unabhängig gewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Wasser, Amine, perfluorierte Verbindungen, oder organische Lösungsmittel, bevorzugt aus der Gruppe bestehend aus Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, 1,2-Dichlorethan, Trichlorethen, Benzol, Toluol, Xylol, Cumol, Hexan, Cyclohexan, Halogenbenzole, Tetrahydrofuran, *tert*-Butylmethylether, Diethylether, Dimethoxyethan, Dimethylformamid, Acetessigester, Aceton, Dimethylcarbonat, Alkohole.
15. Verfahren nach Anspruch 11-14, wobei das komprimierte Gas Kohlendioxid (CO₂) ist.

16. Verfahren nach Anspruch 15, wobei CO₂ unter den Bedingungen der Reaktion gasförmig vorliegt.
17. Verfahren nach Anspruch 15, wobei CO₂ unter den Bedingungen der Reaktion flüssig vorliegt.
18. Verfahren nach Anspruch 15, wobei CO₂ unter den Bedingungen der Reaktion überkritisch vorliegt.
19. Verfahren nach Ansprüchen 1 - 18, wobei die Reaktion bei einer Temperatur zwischen -50°C und 300°C durchgeführt wird.
20. Verfahren nach Anspruch 19, wobei die Reaktion bei einer Temperatur zwischen -20°C und 100 °C durchgeführt wird.
21. Verfahren nach Anspruch 20, wobei die Reaktion bei einer Temperatur zwischen 0°C und 60 °C durchgeführt wird
22. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die Reaktion bei einem CO₂-Druck zwischen 0.15 MPascal und 50 MPascal durchgeführt wird.
23. Verfahren nach Anspruch 22, wobei die Reaktion bei einem CO₂-Druck zwischen 1 MPascal und 30 MPascal durchgeführt wird.
24. Verfahren nach Anspruch 23, wobei die Reaktion bei einem CO₂-Druck zwischen 4 MPascal und 25 MPascal durchgeführt wird.
25. Verfahren nach Ansprüchen 1 – 24, dadurch gekennzeichnet, dass dem Lösungsmittel Wasser zugegeben wird.
26. Verfahren nach Ansprüchen 1 – 25, wobei das Enzym eine Oxidoreduktase, Transferase, Hydrolase, Lyase, Isomerase oder Ligase ist.
27. Verfahren nach Anspruch 26, wobei die enzymatische Reaktion eine Lipase-katalysierte kinetische Racematspaltung ist.

28. Verfahren nach Anspruch 27, wobei die kinetische Racematspaltung eines chiralen Alkohols erfolgt.
29. Verfahren nach Anspruch 28, wobei die Trennung von Edukt und Produkt auf einer bevorzugten Löslichkeit des Alkohols im komprimierten Gas beruht.
30. Verfahren nach Ansprüchen 1 – 29, wobei das Enzym in isolierter Form, als Rohextrakt, in immobilisierter Form oder in Form von ganzen Zellen eingesetzt wird.
31. Verfahren nach Ansprüchen 1 – 25, wobei das Enzym ein katalytischer Antikörper ist.
32. Verfahren nach Ansprüchen 1 – 25, wobei das Enzym ein Ribozym ist.
33. Verfahren nach Ansprüchen 1 – 32, wobei das Enzym rezykliert und wieder als Katalysator eingesetzt wird.
34. Verfahren nach Ansprüchen 1 – 33, wobei das ionische Lösungsmittel rezykliert und wieder eingesetzt wird.
35. Verfahren nach Ansprüchen 1 – 34, wobei das komprimierte Gas rezykliert und wieder eingesetzt wird.

1/3

Versuchsanordnung für diskontinuierliches Verfahren



C = Kompressor;

F = Fluss-Zähler;

G = Extraktionsgas;

K = Kühlfaße;

P = Druckmesser und Thermometer;

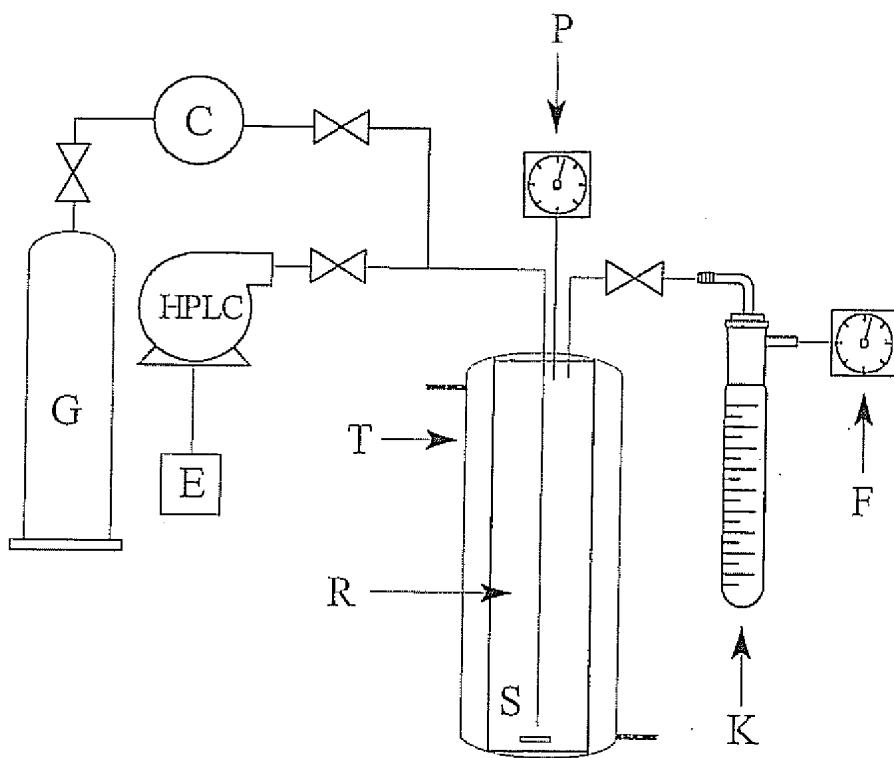
R = Druckbehälter;

S = Ionische Flüssigkeit, Enzym und Reaktionsmischung;

T = Thermostatisches Bad.

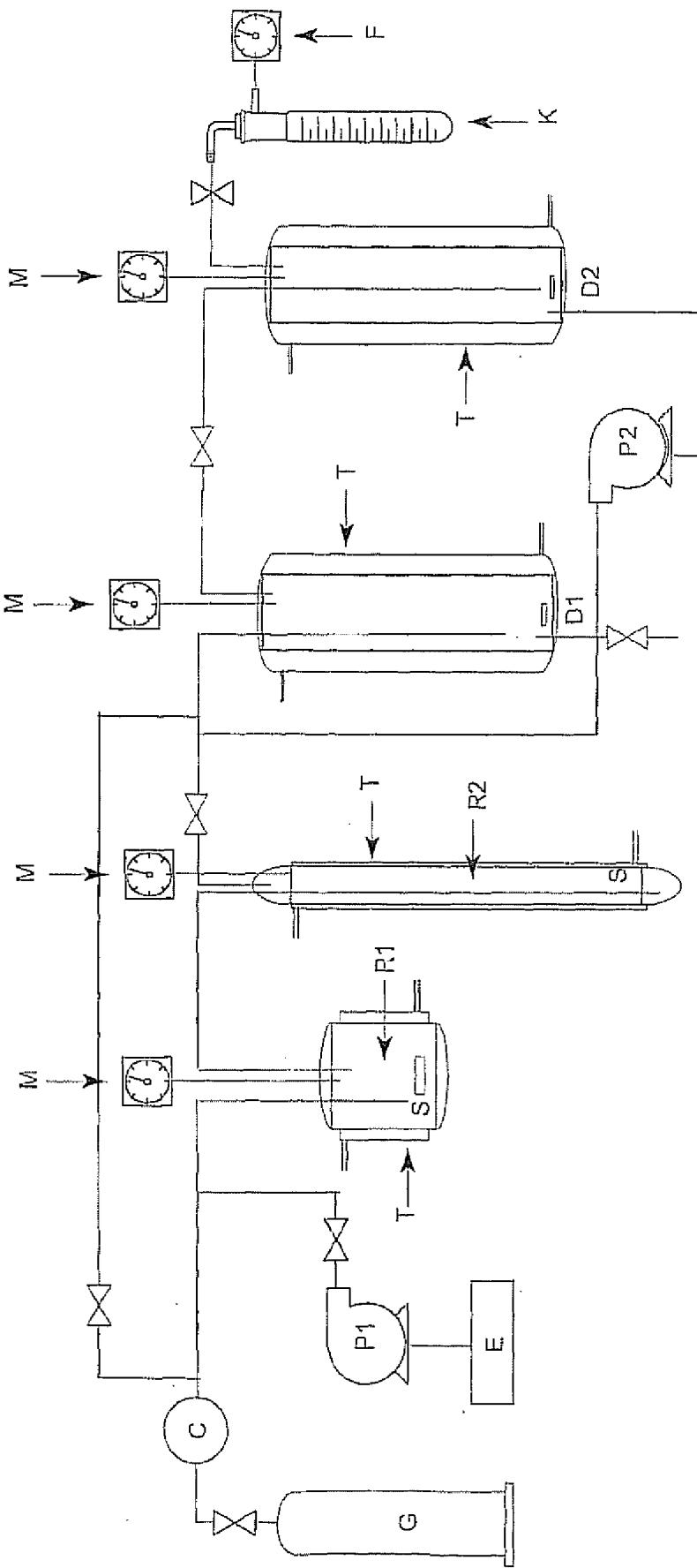
2/3

Versuchsanordnung für kontinuierliches Verfahren



C = Kompressor;
E = Edukte;
F = Fluss-Zähler;
G = Extraktionsgas;
K = Kühlfalle;
P = Druckmesser und Thermometer;
R = Reaktor;
S = Ionische Flüssigkeit und Enzym;
T = Thermostatisches Bad.

Versuchsanordnung für kontinuierliches Verfahren mit sequentieller Trennung



C = Kompressor; D1,2 = Druckbehälter/Abscheider (2 optional); E = Edukte; F = Fluss-Zähler; G = Extraktionsgas; K = Kühlfall; M = Druck- und Temperaturmessgerät; P1,2 = Pumpe (2 optional); R1,2 = Reaktor (2 optional); S = Ionische Flüssigkeit und Enzym; T = Thermostatisierung;

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 C12P7/24

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12P C12M

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, EPO-Internal, PAJ, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category ^a	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	<p>REETZ MANFRED T ET AL: "Biocatalysis in ionic liquids: batchwise and continuous flow processes using supercritical carbon dioxide as the mobile phase." CHEMICAL COMMUNICATIONS (CAMBRIDGE, ENGLAND) ENGLAND 7 MAY 2002, no. 9, 7 May 2002 (2002-05-07), pages 992-993, XP002246314 ISSN: 1359-7345 the whole document</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/-</p>	1-35

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

^a Special categories of cited documents:

- A• document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- E• earlier document but published on or after the International filing date
- L• document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- O• document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- P• document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

•T• later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

•X• document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

•Y• document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

•&• document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

3 July 2003

Date of mailing of the International search report

15/07/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5810 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Schmitz, T

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>HARTMANN T ET AL: "The enantioselective hydrolysis of 3-hydroxy-5-phenyl-4-pentenoic acid ethylester in supercritical carbon dioxide using lipases." ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY, vol. 28, no. 7-8, 7 May 2001 (2001-05-07), pages 653-660, XP002246315 ISSN: 0141-0229 figures 1-3,12 Abschnitte 2.2, 3.2 ---</p>	1-35
X	<p>LASZLO JOSEPH A ET AL: "alpha-Chymotrypsin catalysis in imidazolium-based ionic liquids." BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, vol. 75, no. 2, 20 October 2001 (2001-10-20), pages 181-186, XP002246316 ISSN: 0006-3592 page 183, left-hand column, paragraph 4 -right-hand column, line 6 'Conclusions' figures 1,2; table 1 page 184, right-hand column, line 9 -page 185, left-hand column, line 29 ---</p>	1-35
Y	<p>TSITSIMPIKOU C ET AL: "ACYLATION OF GLUCOSE CATALYSED BY LIPASES IN SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE" JOURNAL OF CHEMICAL TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. (INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOTECHNICAL AND CHEMICAL PROCESSES), ELSEVIER APPLIED SCIENCE PUBLISHERS. BARKING, GB, vol. 71, no. 4, 1 April 1998 (1998-04-01), pages 309-314, XP000769843 ISSN: 0268-2575 the whole document ---</p>	1-35
Y	<p>BLANCHARD L A ET AL: "Green processing using ionic liquids and CO₂ '8!'" NATURE 06 MAY 1999 UNITED KINGDOM, vol. 399, no. 6731, 6 May 1999 (1999-05-06), pages 28-29, XP002177541 ISSN: 0028-0836 the whole document ---</p>	1-35
		-/-

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CAPEWELL A ET AL: "LIPASE-CATALYZED KINETIC RESOLUTION OF 3-HYDROXY ESTERS IN ORGANIC SOLVENTS AND SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE" ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY, STONEHAM, MA, US, vol. 19, no. 3, 1996, pages 181-186, XP001024484 ISSN: 0141-0229 the whole document	1-35
Y	LIU KUAN-JU ET AL: "Synthesis of cocoa butter equivalent by lipase-catalyzed interesterification in supercritical carbon dioxide." JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, vol. 74, no. 11, November 1997 (1997-11), pages 1477-1482, XP002246317 ISSN: 0003-021X the whole document	1-35
Y	GUNNLAUGSDOTTIR HELGA ET AL: "Lipase-catalyzed alcoholysis with supercritical carbon dioxide extraction 2: Phase behavior." JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, vol. 74, no. 11, November 1997 (1997-11), pages 1491-1494, XP002246318 ISSN: 0003-021X the whole document	1-35
A	GUNNLAUGSDOTTIR HELGA ET AL: "Lipase-catalyzed alcoholysis with supercritical carbon dioxide extraction: 1. Influence of flow rate." JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, vol. 74, no. 11, November 1997 (1997-11), pages 1483-1490, XP002246319 ISSN: 0003-021X the whole document	
A	LEITNER W: "Designed to dissolve" NATURE 11 MAY 2000 UNITED KINGDOM, vol. 405, no. 6783, 11 May 2000 (2000-05-11), pages 129-130, XP002246320 ISSN: 0028-0836 the whole document	

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KIM K W ET AL: "Biocatalysis in ionic liquids: markedly enhanced enantioselectivity of lipase." ORGANIC LETTERS. UNITED STATES 17 MAY 2001, vol. 3, no. 10, 17 May 2001 (2001-05-17), pages 1507-1509, XP002246321 ISSN: 1523-7060 cited in the application the whole document -----	

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12P7/24

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12P C12M

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, EPO-Internal, PAJ, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	<p>REETZ MANFRED T ET AL: "Biocatalysis in ionic liquids: batchwise and continuous flow processes using supercritical carbon dioxide as the mobile phase." CHEMICAL COMMUNICATIONS (CAMBRIDGE, ENGLAND) ENGLAND 7 MAY 2002, Nr. 9, 7. Mai 2002 (2002-05-07), Seiten 992-993, XP002246314 ISSN: 1359-7345 das ganze Dokument</p> <p>---</p> <p>-/-</p>	1-35

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam einzusehen ist

'E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zwielichtig erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

'O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

'X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

'&' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

3. Juli 2003

15/07/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Schmitz, T

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Beifachst kominenden Teile	Befr. Anspruch Nr.
X	HARTMANN T ET AL: "The enantioselective hydrolysis of 3-hydroxy-5-phenyl-4-pentenoic acid ethylester in supercritical carbon dioxide using lipases." ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY, Bd. 28, Nr. 7-8, 7. Mai 2001 (2001-05-07), Seiten 653-660, XP002246315 ISSN: 0141-0229 Abbildungen 1-3,12 Abschnitte 2.2, 3.2	1-35
X	LASZLO JOSEPH A ET AL: "alpha-Chymotrypsin catalysis in imidazolium-based ionic liquids." BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, Bd. 75, Nr. 2, 20. Oktober 2001 (2001-10-20), Seiten 181-186, XP002246316 ISSN: 0006-3592 Seite 183, linke Spalte, Absatz 4 -rechte Spalte, Zeile 6 'Conclusions' Abbildungen 1,2; Tabelle 1 Seite 184, rechte Spalte, Zeile 9 -Seite 185, linke Spalte, Zeile 29	1-35
Y	TSITSIMPIKOU C ET AL: "ACYLATION OF GLUCOSE CATALYSED BY LIPASES IN SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE" JOURNAL OF CHEMICAL TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. (INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOTECHNICAL AND CHEMICAL PROCESSES), ELSEVIER APPLIED SCIENCE PUBLISHERS. BARKING, GB, Bd. 71, Nr. 4, 1. April 1998 (1998-04-01), Seiten 309-314, XP000769843 ISSN: 0268-2575 das ganze Dokument	1-35
Y	BLANCHARD L A ET AL: "Green processing using ionic liquids and CO ₂ '8!'" NATURE 06 MAY 1999 UNITED KINGDOM, Bd. 399, Nr. 6731, 6. Mai 1999 (1999-05-06), Seiten 28-29, XP002177541 ISSN: 0028-0836 das ganze Dokument	1-35
		-/-

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENEN UNTERLAGEN

Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	CAPEWELL A ET AL: "LIPASE-CATALYZED KINETIC RESOLUTION OF 3-HYDROXY ESTERS IN ORGANIC SOLVENTS AND SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE" ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY, STONEHAM, MA, US, Bd. 19, Nr. 3, 1996, Seiten 181-186, XP001024484 ISSN: 0141-0229 das ganze Dokument ---	1-35
Y	LIU KUAN-JU ET AL: "Synthesis of cocoa butter equivalent by lipase-catalyzed interesterification in supercritical carbon dioxide." JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, Bd. 74, Nr. 11, November 1997 (1997-11), Seiten 1477-1482, XP002246317 ISSN: 0003-021X das ganze Dokument ---	1-35
Y	GUNNLAUGSDOTTIR HELGA ET AL: "Lipase-catalyzed alcoholysis with supercritical carbon dioxide extraction 2: Phase behavior." JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, Bd. 74, Nr. 11, November 1997 (1997-11), Seiten 1491-1494, XP002246318 ISSN: 0003-021X das ganze Dokument ---	1-35
A	GUNNLAUGSDOTTIR HELGA ET AL: "Lipase-catalyzed alcoholysis with supercritical carbon dioxide extraction: 1. Influence of flow rate." JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, Bd. 74, Nr. 11, November 1997 (1997-11), Seiten 1483-1490, XP002246319 ISSN: 0003-021X das ganze Dokument ---	
A	LEITNER W: "Designed to dissolve" NATURE 11 MAY 2000 UNITED KINGDOM, Bd. 405, Nr. 6783, 11. Mai 2000 (2000-05-11), Seiten 129-130, XP002246320 ISSN: 0028-0836 das ganze Dokument ---	

-/-

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Beiracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	KIM K W ET AL: "Biocatalysis in ionic liquids: markedly enhanced enantioselectivity of lipase." ORGANIC LETTERS. UNITED STATES 17 MAY 2001, Bd. 3, Nr. 10, 17. Mai 2001 (2001-05-17), Seiten 1507-1509, XP002246321 ISSN: 1523-7060 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	